

УДК 575.2:575.22:574.3
AGRIS F30

https://doi.org/10.33619/2414-2948/41/06

ВНУТРИВИДОВОЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОПУЛЯЦИЙ ДВУХ ВИДОВ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ПЕРМСКОГО КРАЯ

©Пришнивская Я. В., ORCID: 0000-0003-1513-2682, Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, yana_prishnivskaya@mail.ru

©Нассонова Е. С., ORCID: 0000-0002-7589-4913, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, lena.nassonova@mail.ru

©Чертов Н. В., ORCID: 0000-0003-0250-220X, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, super.gall@mail.ru

©Жуланов А. А., ORCID: 0000-0003-2546-9350, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, aumakua.ru@gmail.com

©Васильева Ю. С., ORCID: 0000-0002-2255-2434, канд. биол. наук,
Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, Yulianechaeva@mail.ru

©Боронникова С. В., ORCID: 0000-0002-5498-8160, д-р биол. наук,
Пермский государственный национальный исследовательский университет,
г. Пермь, Россия, SVBoronnikova@yandex.ru

©Календарь Р. Н., ORCID: 0000-0003-3986-2460, Республиканское государственное предприятие «Национальный центр биотехнологии»,
г. Астана, Казахстан, ruslan.kalendar@mail.ru

GENETIC DIVERSITY WITHIN SPECIES OF TWO SPECIES WOODY PLANTS POPULATIONS IN PERM KRAI

©Prishnivskaya Ya., ORCID: 0000-0003-1513-2682, Perm State University,
Perm, Russia, yana_prishnivskaya@mail.ru

©Nassonova E., ORCID: 0000-0002-7589-4913, Perm State University,
Perm, Russia, lena.nassonova@mail.ru

©Chertov N., ORCID: 0000-0003-0250-220X, Perm State University,
Perm, Russia, super.gall@mail.ru

©Zhulanov A., ORCID: 0000-0003-2546-9350, Perm State University,
Perm, Russia, aumakua.ru@gmail.com

©Vasileva Yu., ORCID: 0000-0002-2255-2434, Ph.D.,
Perm State University, Perm, Russia, Yulianechaeva@mail.ru

©Boronnikova S., ORCID: 0000-0002-5498-8160, Dr. habil, Perm State University,
Perm, Russia, SVBoronnikova@yandex.ru

©Kalendar R., ORCID: 0000-0003-3986-2460, RSE “National Center for Biotechnology”,
Astana, Kazakhstan, ruslan.kalendar@mail.ru

Аннотация. Для определения внутривидового генетического разнообразия проведено изучение 3 популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L., *Pinaceae*) и 3 популяций западной расы лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb., *Pinaceae*) в Пермском крае. У *P. sylvestris* аплифицированы 114 ISSR–PCR маркеров, а у *L. sibirica* — 116 ISSR–PCR маркеров. Для характеристики внутривидового генетического разнообразия определены доля полиморфных локусов, ожидаемая гетерозиготность, число редких ISSR–PCR маркеров. Изученные виды характеризуются высоким генетическим разнообразием, но доля полиморфных локусов выше у *P. sylvestris*, а ожидаемая гетерозиготность и число

эффективных аллелей — у *L. sibirica*. У каждого вида выявлены популяции с высокими и низкими параметрами генетического разнообразия. В каждой из 6 изученных популяций двух видов древесных растений отмечены редкие аллели, причем в популяциях *P. sylvestris* их число варьирует от 6 до 13, а в популяциях *L. sibirica* — от 3 до 10. Анализ генетической структуры изученных популяций двух хвойных видов растений в Пермском крае показал, что на межпопуляционную компоненту генетического разнообразия приходится у *P. sylvestris* 30,28%, а у *L. sibirica* — 30,92%; большая часть генетического разнообразия *P. sylvestris* (69,72%) и *L. sibirica* (69,08%) сосредоточена внутри популяций. Для родов *Pinus* и *Larix* выявлены родовые, а для *P. sylvestris* и *L. sibirica* — видовые маркеры. Установлены идентификационные полиморфные маркеры или их сочетания, характерные для изученных популяций данных видов, составлены их молекулярно–генетические формулы и штрихкоды. Данные о внутривидовом генетическом разнообразии популяций древесных растений Пермского края позволят рекомендовать меры их сохранения, а также провести молекулярно–генетическую идентификацию как природных популяций, так и древесины из этих популяций, что важно для определения легальности ее заготовки.

Abstract. Researched 3 Scots pine populations (*Pinus sylvestris* L., *Pinaceae*) and 3 populations of western species of Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb., *Pinaceae*) in Perm krai for genetic diversity within species detecting. 114 ISSR–PCR *P. sylvestris* markers and 116 ISSR–PCR *L. sibirica* markers were amplified. The rate of polymorphic loci expected heterozygosity and number of rare ISSR–PCR markers were identified. Researched species are characterized by high genetic diversity. The rate of polymorphic loci is higher in *P. sylvestris*; expected heterozygosity and the number of effective alleles is higher in *L. sibirica*. Each species has populations with high and low genetic diversity parameters. The rare alleles were identified in every of 6 researched populations, but the number ranges from 6 to 13 in *P. sylvestris* populations and from 3 to 10 in *L. sibirica* populations. Genetic structure of researched populations analysis show that the interpopulation component of genetic diversity accounts for 30.28% in *P. sylvestris* and 30.92% in *L. sibirica*; most of the genetic diversity of *P. sylvestris* (69, 72%) and *L. sibirica* (69.08%) is concentrated within populations. Generic markers were found for the genus *Pinus* and *Larix*, and species markers for *P. sylvestris* and *L. sibirica*. Identification polymorphic markers or their combinations typical for the studied populations of two studied species. The molecular genetic formulas and barcodes of the studied populations are composed. Data on the intraspecific genetic diversity of populations of woody plants of the Perm krai will allow to recommend measures of their conservation, as well as to carry out molecular genetic identification of both natural populations and wood from these populations, which is important for determining the legality of its harvesting.

Ключевые слова: генетическое разнообразие, идентификационные маркеры, *Pinus sylvestris* L., *Larix sibirica* Ledeb., Пермский край.

Keywords: genetic diversity, identification markers, *Pinus sylvestris* L., *Larix sibirica* Ledeb., Perm krai.

Наибольший интерес представляет изучение генетического разнообразия на популяционном уровне. Новое направление, названное геномикой популяций, включает комплекс новейших подходов и геномных технологий для изучения генетического разнообразия популяций с целью сохранения и устойчивого управления генетическими ресурсами растений [1]. Особенно актуальны исследования закономерностей распределения

генетической изменчивости для видов, занимающих обширные ареалы и имеющих хозяйственное значение [2]. Антропогенное влияние, включая вырубку деревьев, оказывают негативное влияние на древесные растения из-за сокращения их ареалов и фрагментации, снижения общей и эффективной численности и плотности популяций, вплоть до исчезновения отдельных локальных популяций. Рубки леса ликвидируют часть генотипов, что неминуемо приводит к генетическому обеднению популяций [3]. Одной из основных для лесного хозяйства является проблема незаконной заготовки древесины и экспертное доказательство ее происхождения [4]. Только генетический тест позволит определить конкретную популяцию, в которой заготовлена древесина. В связи с этим необходимо выявление идентификационных для популяций молекулярных маркеров с целью генетического контроля происхождения древесины.

У хвойных видов древесных растений модельным для генетического анализа избран вид из рода *Larix* Mill., в связи с тем, что он считается наиболее распространенным во всем мире, включая и Российскую Федерацию [5]. На Урале род *Larix* представлен западной расой лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb. [6]. Изученные популяции определены как западная раса лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb. (*L. sukaczewii*) и сокращенно обозначена как *L. sibirica*. В. П. Путенихин и З. Х. Шигапов с соавторами [5, 7] исследовали с применением изоферментных маркеров генетическую изменчивость природных популяций *L. sukaczewii* на Среднем Урале. В. Л. Семериков с соавторами [8] с применением AFLP-маркеров, изоферментных, митохондриальных и хлоропластных, а также с выявлением нуклеотидного полиморфизма у отдельных потенциально адаптивно-значимых генов, изучил генетическую изменчивость, главным образом, для анализа вопросов филогении, на Приполярном Урале и на восточном макро-склоне Уральских гор.

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) является одним из наиболее широко распространенных, экономически важных лесообразующих видов растений, играющим исключительно важную роль в формировании структуры и функций лесных экосистем [9]. У сосны обыкновенной изучен полиморфизм изоферментов [10–12], а полиморфизм ISSR-PCR маркеров исследован только в искусственных насаждениях [4]. В Пермском крае изучаются структуры древостоев, экологические аспекты распространения сосняков [13], но не проводились генетические исследования популяций *P. sylvestris*. Внутривидовое генетическое разнообразие как основа для проведения молекулярно-генетической идентификации древесины в природных популяциях двух хвойных видов растений (*P. sylvestris* и *L. sibirica*) на территории Пермского края ранее не изучалось.

Цель работы — выявление внутривидового генетического разнообразия популяций двух видов древесных растений (*P. sylvestris* и *L. sibirica*) на территории Пермского края, определение генетической структуры шести популяций двух видов и проведение молекулярно-генетической идентификации изученных популяций.

Материалы и методы исследований

В качестве объектов исследований избраны 3 популяции сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L., *Pinaceae*), из разных районов Пермского края: Березниковского (*Ps1*, 58.0404 с. ш.), Добрянского (*Ps2*, 59.0200 с. ш.), Суксунского (*Ps3*, 57.0835 с. ш.). Между *Ps1* и *Ps2* расстояние в 180 км, а между *Ps1* и *Ps3* — 301 км. Три популяции западной расы лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb., *Pinaceae*) находятся в северной, центральной и южной частях Пермского края, а именно в Красновишерском (*Ls1*, 60.3264 с. ш.); Добрянском (*Lsb2*, 58.2998 с. ш.), Суксунском районах (*Ls3*, 57.0688 с. ш.). На большем географическом расстоянии (363 км) находятся популяции *Ls1* и *Ls3*, а на наименьшем — *Lsb2* и *Ls3* (154 км).

Для проведения молекулярно–генетического анализа хвоя была собрана с каждого из 28-30 деревьев во всех изученных 6 популяциях, а также взяты пробы древесины. ДНК из проб растительного материала выделяли по методике С. Роджерса с соавторами [14] с модификациями для хвойных растений [15]. Качество и характеристики ДНК определяли на приборе SpectrofotometrTMNanoDrop 2000 (Thermo scientific, USA). Молекулярно-генетическое изучение популяций 2 видов были проведены с применением ISSR (Inter Simple Sequence Repeats [16]) — метода анализа полиморфизма ДНК. Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала: 2 единицы *Taq*-полимеразы; 2,5 мкл 10× буфера + MgCl₂ («Силекс М», Россия); 25 пМ праймера («Синтол», Россия); 0,25 mM dNTP (Fermentas, Литва); 5 мкл тотальной ДНК. Амплификацию ДНК проводили в термоциклере GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) с тремя ISSR-праймерами, эффективными для *P. sylvestris* (M3 (AC)₈CG, ISSR-8 (GAG)₆C, X11 (AGC)₆G); и с тремя же ISSR-праймерами, но эффективными для *L. sibirica* (M27 (GA)₈C, IS-1 (AC)₈T, CR-212 (CT)₈TG). Для 2 исследованных видов использовались 2 одинаковых ISSR-праймера CR-215 (CA)₆GT и X10 (AGC)₆C, один из которых динуклеотидный, а второй в коровом повторе содержит три нуклеотида. В процессе ПЦР пробы ДНК амплифицировались по общепринятой для ISSR-метода программе: начальная денатурация 94 °C, 2 мин.; первые 5 циклов 94 °C, 20 сек.; t° отжига, 10 сек.; 72 °C, 10 сек.; в дальнейших 35 циклах 94 °C, 5 сек.; t° отжига, 5 сек.; 72 °C, 5 сек. Температура отжига в зависимости от G/C состава праймеров изменялась от 46 °C до 56 °C. Для определения чистоты реактивов в качестве К — в реакционную смесь добавляли взамен ДНК 5 мкл деионизированной воды. Ампликоны разделяли электрофорезом в 1,7-2,0% агарозном геле в 1× TBE буфере, окрашивали бромистым этидием. Для определения длин ампликонов выбрали маркер молекулярной массы (100 bp +1.5 + 3 Kb DNA Ladder, (ООО «СибЭнзим-М», Москва). Фотографирование и подсчет длин ампликонов проводили с помощью системы гель-документации GelDoc, а также программы Quantity One (Bio-Rad, USA). Проведено молекулярно-генетическое исследование 114 ISSR-PCR маркеров у 84 деревьев *P. sylvestris*, а также 117 ISSR-PCR маркеров у 88 деревьев *L. sibirica*.

В данной работе проанализированы лишь только показатели генетического разнообразия популяций, которые важны для определения внутривидового разнообразия и выявления идентификационных для популяций молекулярных маркеров. Выявление полиморфизма ДНК проведено с поддержкой общепризнанных компьютерных программ POPGENE 1.31 [17] и спец макроса GenAIE×6 для MS–Excel [18] с определением доли (P_{95}) полиморфных локусов [19], ожидаемой (H_E) гетерозиготности [20]; абсолютного (n_a) числа аллелей и эффективного (n_e) числа аллелей [21]; числа редких аллелей. Анализ генетической структуры популяций проводили на основании следующих параметров [22]: ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_t) во всей популяции, как мера общего генного разнообразия; ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_s) в субпопуляции, как мера ее внутривидового разнообразия; доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности популяций (G_{st}).

Выявление идентификационных маркеров и обозначение линий в штрихкоде проводились в соответствии с методикой С. В. Боронниковой [23]. Для поиска «родовых» маркеров использована ДНК близкого вида рода *Pinus* — сосны сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour), а для рода *Larix* — *Larix sukaczewii* Dyl. Мономорфные ISSR-PCR маркеры, характерные для вида *P. sylvestris*, обозначены как Ps_vid, а полиморфные как Ps_p; PIN — родовые маркеры для двух видов рода *Pinus*. Аналогично видовые маркеры для *L. sibirica* обозначены как Ls_vid, полиморфные как Ls_p, а родовые для двух видов рода *Larix* как LAR.

Результаты и их обсуждение

При изучении 3 популяций *P. sylvestris* выявлено 114 различных ISSR-PCR маркеров, из них число полиморфных различных маркеров определено как 101, а их доля очень высока — 0,886 (Таблица). Для исследованных 3 популяций этого вида ожидаемая доля гетерозигот (H_E) низка — 0,164. Наивысшее значение этого показателя подсчитано в *Ps1* ($H_E = 0,226$), а наименьшее — в *Ps3* ($H_E = 0,046$). Наибольшим генетическим разнообразием по трем основным параметрам характеризуется *Ps1* ($P_{95} = 0,912$; $H_E = 0,226$; $n_e = 1,372$), а минимальным среди изученных популяций — *Ps3* ($P_{95} = 0,486$; $H_E = 0,046$; $n_e = 1,074$). Для *P. sylvestris* в литературе приведены пределы варьирования ожидаемой гетерозиготности — от 0,154 до 0,229 [24]. В изученных популяционных системах *P. sylvestris* диапазон этого показателя шире — от 0,046 (*Ps3*) до 0,226 (*Ps1*).

Таблица.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОПУЛЯЦИЙ *P. sylvestris* и *L. sibirica*

Популяции / показатели	<i>Ps1</i>	<i>Ps2</i>	<i>Ps3</i>	На общую выборку <i>P. sylvestris</i>	<i>Ls1</i>	<i>Ls2</i>	<i>Ls3</i>	На общую выборку <i>L. sibirica</i>
P_{95}	0,912	0,891	0,486	0,886	0,796	0,741	0,768	0,844
H_E	0,226 (0,017)	0,221 (0,016)	0,046 (0,011)	0,164 (0,006)	0,205 (0,017)	0,180 (0,018)	0,213 (0,0118)	0,279 (0,005)
n_a	1,763 (0,427)	1,772 (0,421)	1,158 (0,366)	1,965 (0,185)	1,632 (0,484)	1,538 (0,500)	1,623 (0,486)	1,914 (0,280)
n_e	1,372 (0,350)	1,352 (0,320)	1,074 (0,207)	1,369 (0,305)	1,336 (0,341)	1,307 (0,372)	1,364 (0,377)	1,483 (0,339)
R	12	13	6	31	3	9	10	22

Примечание: H_E — ожидаемая гетерозиготность; n_a — абсолютное число аллелей на локус; n_e — эффективное число аллелей на локус; у всех вышеуказанных параметров в скобках даны стандартные отклонения; R — число редких маркеров, в скобках указана их доля от общего числа фрагментов; популяции *P. sylvestris*: *Ps1*, *Ps2*, *Ps3*; популяции *L. sibirica*: *Ls1*, *Ls2*, *Ls3*

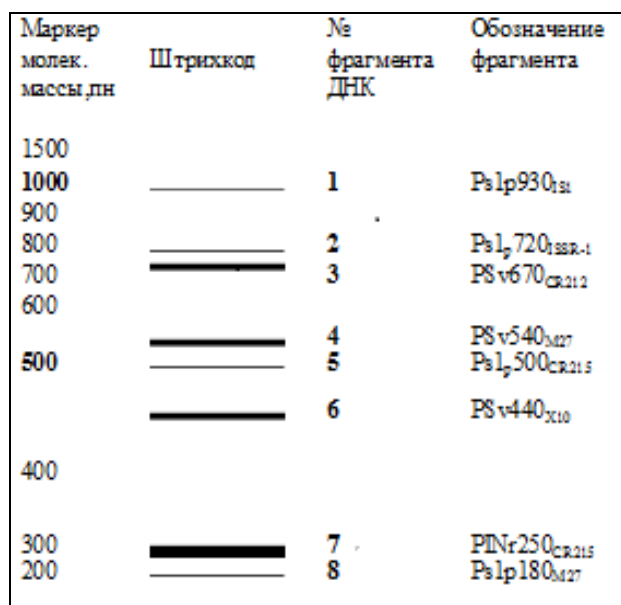
Редкими называются аллели, которые представлены в популяции с частотой меньше 5%. Наибольшее число редких ISSR-PCR маркеров выявлено в популяции *Ps2* ($R=13$); близкое значение установлено в популяции *Ps1* ($R=12$). Меньшим в два раза числом редких маркеров характеризуется третья популяция *P. sylvestris* ($R=6$). У *P. sylvestris* как на общую выборку, так и в отдельных изученных популяциях выявлено большое число редких маркеров. В данном случае, по мнению авторов, выявление большого числа редких маркеров обусловлено тем, что популяции расположены друг от друга на большом географическом расстоянии (от 180 до 301 км).

При изучении 3 популяций *L. sibirica* в Пермском крае амплифицировано 116 ISSR-PCR маркеров. Как полиморфные указаны 98 локусов ($P_{95} = 0,844$). На объединенную выборку из 3 популяций *L. sibirica* ожидаемая гетерозиготность выше ($H_E = 0,199$), чем на таковую у *P. sylvestris* (Таблица). Наибольшая ожидаемая гетерозиготность отмечена среди изученных популяций *L. sibirica* в *Ls3* ($H_E = 0,215$), а наименьшая — в *Ls2* ($H_E = 0,180$). Наибольшим генетическим разнообразием характеризуется популяция *L. sibirica* *Ls3* ($P_{95} = 0,768$; $H_E = 0,213$; $n_e = 1,364$), а минимальным среди изученных популяций — *Ls2* ($P_{95} = 0,741$; H_E

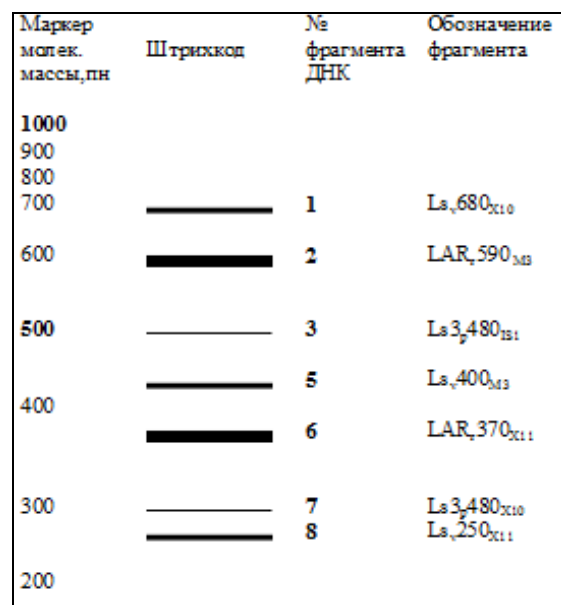
=0,180; $n_e = 1,307$). Наибольшее число редких ISSR-PCR маркеров выявлено в популяции *Ls3* ($R=10$); близкое значение установлено в популяции *Ls2* ($R=9$). В целом, в изученных трех популяциях *L. sibirica* отмечено меньшее число редких маркеров, чем в трех популяциях *P. sylvestris*.

В качестве «родового» на основании молекулярно-генетического анализа двух видов рода *Pinus* предлагаем маркер PIN_r250_{CR215} [25]. Установлено, что видовым для *P. sylvestris* является маркер PS_v670_{CR212}, PS_v540_{M27} и PS_v440_{X10}. Для *Ps1* выявлены полиморфные идентификационные маркеры Ps_{1p}720_{ISSR-1} с частотой 0,850; Ps_{1p}500_{CR215} с частотой 0,862; для *Ps2* — Ps_{2p}400_{CR212}.

Штрихкод популяции *Ps1 P. sylvestris* представлен на рисунке в части А.



А



Б

Рисунок. Штрихкоды популяций: А — популяция *Ps1*; Б — популяция *Ls3*.

В качестве идентификационных «родовых» маркеров двух видов рода *Larix* предлагаем LAR_r590_{M3} и LAR_r370_{X11}. Определено, что видовыми маркером для *L. sibirica* являются маркеры Ls_v680_{X10}, Ls_v400_{M3} и Ls_v250_{X11}. Для *Ls1* выявлены полиморфные идентификационные маркеры Ls_{1p}580_{X11} с частотой 0,763, Ls_{1p}420_{M3} с частотой 0,890; для *Ls2* — Ls_{2p}850_{M3} (0,756) и для *Ls3* — Ls_{3p}480_{IS8} (0,873) и Ls_{3p}270_{X10} (0,960). Штрихкод популяции *Ls3 L. sibirica* представлен на Рисунке в части Б.

Анализ генетической структуры изученных популяций *P. sylvestris* Пермского края показал, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов во всей популяции выше ($H_t=0,235$), чем ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельных популяциях ($H_s=0,164$), поэтому показатель подразделенности популяций имеет среднее значение ($G_{st}= 0,303$). В изученных популяциях *L. sibirica* как доля гетерозиготных генотипов во всей популяции ($H_t= 0,289$), так и ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельных популяциях ($H_s=0,199$), выше. Тем не менее, показатель подразделенности популяций (G_{st}) почти одинаков у изученных видов и равен у *L. sibirica* — 0,309. Таким образом, изученные популяции *P. sylvestris* и *L. sibirica* дифференцированы в средней степени; большая часть генетического разнообразия сосредоточена внутри популяций (около 69%), а на межпопуляционную компоненту генетического разнообразия приходится у *P. sylvestris* 30,28%, а у *L. sibirica* — 30,92%.

Заключение

При изучении внутривидового генетического разнообразия *P. sylvestris* в Пермском крае выявлено 114 ISSR-PCR маркеров, из которых 101 полиморфны. Для *P. sylvestris* свойственен высокий уровень генетического разнообразия ($P_{95} = 0,886$; $H_E = 0,164$; $n_e = 1,369$). Более генетически разнообразна популяция этого вида *Ps1* ($P_{95} = 0,912$; $H_E = 0,226$; $n_e = 1,372$), а менее — *Ps3* ($P_{95} = 0,486$; $H_E = 0,046$; $n_e = 1,074$). У всех изученных популяций *P. sylvestris* отмечены редкие ISSR-PCR маркеры: в *Ps1* — 12, в *Ps2* — 13; в *Ps3* — 6. Молекулярно-генетический анализ 3 популяций *L. sibirica* выявил 116 ISSR-PCR маркеров. Доля полиморфных локусов у этого вида ниже ($P_{95} = 0,844$), чем у *P. sylvestris*. Ожидаемая гетерозиготность *L. sibirica* ($H_E = 0,279$) выше, чем у *P. sylvestris*. Популяции *L. sibirica* более гетерогенны по показателям генетического разнообразия: в популяции *Ls3* эти характеристики самые высокие ($P_{95} = 0,768$; $H_E = 0,213$; $n_e = 1,364$), а в популяциях *Ls2* — меньшие ($P_{95} = 0,741$; $H_E = 0,180$; $n_e = 1,307$). Изученные виды характеризуются высоким генетическим разнообразием, но доля полиморфных локусов выше у *P. sylvestris*, а ожидаемая гетерозиготность и число эффективных аллелей — у *L. sibirica*. В популяциях *L. sibirica* отмечены редкие ISSR-PCR маркеры, но в меньшем числе, чем в популяциях *P. sylvestris*, а именно: в *Ls1* — 3, в *Ls2* — 9; в *Ls3* — 10.

Анализ генетической структуры изученных популяций двух хвойных видов растений в Пермском крае показал, что изученные популяции *P. sylvestris* и *L. sibirica* дифференцированы в средней степени; на межпопуляционную компоненту генетического разнообразия приходится у *P. sylvestris* 30,28%, а у *L. sibirica* — 30,92%. Таким образом, большая часть генетического разнообразия *P. sylvestris* и *L. sibirica* сосредоточена внутри популяций. Выявлены родовые маркеры для родов *Pinus* и *Larix*, а также видовые для *P. sylvestris* и *L. sibirica*; установлены идентификационные полиморфные маркеры и их сочетания, характерные для изученных популяций; составлены молекулярно-генетические формулы и штрихкоды изученных популяций. Изучение внутривидового генетического разнообразия природных популяций древесных растений Пермского края необходимо для рекомендаций мер их сохранения, включая поддержание генетической структуры популяций и генетический контроль происхождения древесины.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Правительства Пермского края в рамках научного проекта №С-26/174.3 от 31.01.2019.

Список литературы:

1. Rajora O. P. Population Genomics: Concepts, Approaches and Applications. Springer, 2019. 824 p. DOI: 10.1007/978-3-030-04589-0.
2. Петрова Е. А., Горошкевич С. Н., Белоконь М. М. и др. Генетическое разнообразие кедра сибирского *Pinus sibirica* Du Tour: распределение вдоль широтного и долготного профилей // Генетика. 2014. Т. 50. №5. С. 538-553. DOI: 10.7868/S0016675814050105.
3. Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф., Кузнецова Т. Ю. Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. 312 с.
4. Новиков П. С., Шейкина О. В. ISSR-анализ деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) различных селекционных категорий // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2012. №82. С. 1-13.

5. Путенихин В. П., Фарукшина Г. Г., Шигапов З. Х. Лиственница Сукачева на Урале. Изменчивость и популяционно-генетическая структура. М.: Наука, 2004. 276 с.
6. Семериков В. Л., Ирошников А. И., Ласко М. Структура изменчивости митохондриальной ДНК и послеледниковая история лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) // Экология. 2007. №3. С. 163-171.
7. Шигапов, З. Х., Шигапова А. И., Уразбахтина К. А. Генетическая изменчивость и популяционная структура лиственницы Сукачева на Урале // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. №6. С. 438-440.
8. Semerikov L. V., Semerikova S. A., Polezhaeva M. A., Kosintsev P. A. Martin Lascoux Southern montane populations did not contribute to the recolonization of West Siberian Plain by Siberian larch (*Larix sibirica*): a rangewide analysis of cytoplasmic markers // Molecular Ecology. 2013. V. 22. P. 4958-4971. <https://doi.org/10.1111/mec.12433>.
9. Тараканов В. В. Структура изменчивости, селекция и семеноводство сосны обыкновенной в Сибири: дисс. ... д-ра с.-х. наук. Новосибирск, 2003. 454 с.
10. Гончаренко Г. Г., Силин А. Е., Падутов В. Е. Исследование генетической структуры и уровня дифференциации у *Pinus sylvestris* L. в центральных и краевых популяциях Восточной Европы и Сибири // Генетика. 1993. Т. 29. №12. С. 2019-2036.
11. Шигапов З. Х., Бахтъярова Р. М., Янбаев Ю. А. Генетическая изменчивость и дифференциация природных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) // Генетика. 1995. Т. 31. №10. С. 1386-1393.
12. Петрова Е. А., Велисевич С. Н., Белоконь М. М. и др. Генетическое разнообразие и дифференциация популяций кедра сибирского на южной границе ареала в равнинной части Западной Сибири // Экологическая генетика. 2014. Т. 22. №1. С. 48-61.
13. Рогозин В. Селекция сосны обыкновенной для плантационного выращивания. Пермь, 2013. 200 с.
14. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant molecular biology. 1985. V. 5. №2. P. 69-76. <https://doi.org/10.1007/BF00020088>.
15. Бельтюкова Н. Н., Нечаева Ю. С., Пришнивская Я. В. и др. Оптимизация методики выделения ДНК некоторых хвойных видов растений Пермского края // Синтез знаний в естественных науках. Рудник будущего: проекты, технологии, оборудование: материалы международной конференции. Пермь, 2011. С. 278-282.
16. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification // Genomics. 1994. V. 20. №2. P. 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>.
17. Yeh F. C. et al. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits // Dept. Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Canada. 1996.
18. Peakall R. O. D., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Molecular ecology notes. 2006. V. 6. №1. P. 288-295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>.
19. Williams J. G. K., Kubelik A.R., Livak K. J. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // JNucl. Acids Res. 1990. V. 18. P. 6531-6535. <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>.
20. Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. New York: Columbia University Press, 1987.
21. Kimura M., Crow J. F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // Genetics (US). 1964. V. 49. P. 725-738.

22. Nei M. Molecular population genetics and evolution. Amsterdam, 1975. 278 p.
23. Боронникова С. В. Молекулярно-генетическая идентификация и паспортизация редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений. Пермь, 2008. 120 с.
24. Lesiczka P. et al. Variability of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) called Tabórz pine (Forest District Miłomłyn) expressed in analysis of morphology of needle traits and polymorphism of microsatellite DNA // *Forest Research Papers*. 2017. V 78. №2. P. 136-148. DOI: <https://doi.org/10.1515/frp-2017-0015>.
25. Нассонова Е. С. Молекулярно-генетическая идентификация популяций *Pinus sylvestris* L. в Кировской области и Пермском крае // *Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии: материалы региональной студенческой научной конференции с международным участием*. Пермь, 2017. 129 с.

References:

1. Rajora, O. P. (2019). *Population Genomics: Concepts, Approaches and Applications*. Springer. 824. doi:10.1007/978-3-030-04589-0.
2. Petrova, E. A., Goroshkevich, S. N., Belokon, M. M., Belokon, Y. S., & Politov, D. V. (2014). Distribution of the genetic diversity of the Siberian stone pine, *Pinus sibirica* Du Tour, along the latitudinal and longitudinal profiles. *Russian Journal of Genetics*, 50(5), 467-482. doi:10.7868/S0016675814050105.
3. Vetchinnikova, L. V., Titov, A. F., & Kuznetsova, T. Yu. (2013). Karel'skaya bereza: biologicheskie osobennosti, dinamika resursov i vosproizvodstvo. Petrozavodsk, Karel'skii nauchnyi tsentr RAN, 312. (in Russian)
4. Novikov, P. S., & Sheykina, O. V. (2012). ISSR analysis of *Pinus sylvestris* trees appurtenant to different selection categories. *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*, (82), 1-13. (in Russian).
5. Putenikhin, V. P., Farukshina, G. G., & Shigapov, Z. Kh. (2004). Listvennitsa Sukacheva na Urale. *Izmenchivost' i populyatsionno-geneticheskaya struktura*. Moscow, Nauka, 276.
6. Semerikov, V. L., Iroshnikov, A. I., & Lascoux, M. (2007). Mitochondrial DNA variation pattern and postglacial history of the Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.). *Russian Journal of Ecology*, 38(3), 147-154. (in Russian).
7. Shigapov, Z. Kh., Shigapova, A. I., & Urazbakhtina, K. A. (2009). Geneticheskaya izmenchivost' i populyatsionnaya struktura listvennitsy Sukacheva na Urale. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*, (6), 438-440. (in Russian).
8. Semerikov, L. V., Semerikova, S. A., Polezhaeva, M. A. & Kosintsev, P. A. (2013). Southern montane populations did not contribute to the recolonization of West Siberian Plain by Siberian larch (*Larix sibirica*): a rangewide analysis of cytoplasmic markers. *Molecular Ecology*, 22, 4958-4971. <https://doi.org/10.1111/mec.12433>.
9. Tarakanov, V. V. (2003). *Struktura izmenchivosti, selektsiya i semenovodstvo sosny obyknovennoi v Sibiri*: Dr. diss. Novosibirsk, 454. (in Russian).
10. Goncharenko, G. G., Silin, A. E., & Padutov, V. E. (1993). Issledovanie geneticheskoi struktury i urovnya differentsiatsii u *Pinus sylvestris* L. v tsentral'nykh i kraevykh populyatsii Vostochnoi Evropy i Sibiri. *Genetika*, 29(12), 2019-2036.
11. Shigapov, Z. Kh., Bakht'yarova, R. M., & Yanbaev, Yu. A. (1995). Geneticheskaya izmenchivost' i differentsiatsiya prirodnykh populyatsii sosny obyknovennoi (*Pinus sylvestris* L.). *Genetika*, 31(10), 1386-1393.

12. Petrova, Ye. A., Velisevich, S. N., Belokon, M. M., Belokon, Yu. S., Politov, D. V., & Goroshkevich, S. N. (2014). Genetic diversity and differentiation of Siberian stone Pine populations at the Southern edge in lowland part of West Siberia. *Ecological genetics*, 22(1), 48-61. (in Russian).
13. Rogozin, M. V. (2013). Seleksiya sosny obyknovенnoi dlya plantatsionnogo vyrashchivaniya. Perm: PGNIU, 200. (in Russian).
14. Rogers, S. O., & Bendich, A. J. (1985). Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant molecular biology*, 5(2), 69-76. <https://doi.org/10.1007/BF00020088>.
15. Bel'tyukova, N. N., Nechaeva, Yu. S., & Prishnivskaya, Ya. V. i dr. (2011). Optimizatsiya metodiki vydeleniya DNK nekotorykh khvoynykh vidov rastenii Permskogo kraya. In: *Sintez znaniy v estestvennykh naukakh. Rudnik budushchego: proekty, tekhnologii, oborudovanie: materialy mezhdunarodnoi konferentsii. Perm*, 278-282. (in Russian).
16. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>.
17. Yeh, F. C., Yang, R. C., Mao, J., Ye, Z., & Boyle, T. J. (1996). POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Dept. Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Canada.
18. Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>.
19. Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18(22), 6531-6535. <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>.
20. Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press.
21. Kimura, M., & Crow, J. F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49(4), 725-738.
22. Nei, M. (1975). *Molecular population genetics and evolution*. North-Holland Publishing Company.
23. Boronnikova, S. V. (2008). Molekulyarno-geneticheskaya identifikatsiya i pasportizatsiya redkikh i nakhodyashchikhsya pod ugrozoi ischeznoveniya vidov rastenii. Perm, 120. (in Russian).
24. Lesiczka, P., Pawlaczyk, E. M., Łabiszak, B., & Urbaniak, L. (2017). Variability of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) called Tabórz pine (Forest District Miłomłyn) expressed in analysis of morphology of needle traits and polymorphism of microsatellite DNA. *Forest Research Papers*, 78(2), 136-148. doi: <https://doi.org/10.1515/frp-2017-0015>.
25. Nasonova, E. S. (2017). Molekulyarno-geneticheskaya identifikatsiya populyatsii *Pinus sylvestris* L. v Kirovskoi oblasti i Permskom krae. In: *Fundamental'nye i prikladnye issledovaniya v biologii i ekologii: materialy regional'noi studencheskoi nauchnoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, Perm*, 129. (in Russian).

Ссылка для цитирования:

Пришнивская Я. В., Нассонова Е. С., Чертов Н. В., Жуланов А. А., Васильева Ю. С., Боронникова С. В., Календарь Р. Н. Внутривидовое генетическое разнообразие популяций двух видов древесных растений Пермского края // Бюллетень науки и практики. 2019. Т. 5. №4. С. 58-68. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/41/06>.

Cite as (APA):

Prishnivskaya, Ya., Nasonova, E., Chertov, N., Zhulanov, A., Vasileva, Yu., Boronnikova, S., & Kalendar, R. (2019). Genetic Diversity Within Species of Two Species Woody Plants Populations in Perm Krai. *Bulletin of Science and Practice*, 5(4), 58-68. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/41/06>. (in Russian).